

1960

Hans Berend Groeneveld



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554419_0110

Aus dem Hygiene-Institut der Johannes Gutenberg-Universität
Mainz
(Direktor: Prof. Dr. Heinrich Kliewe)

DIE BEEINFLUSSUNG DER BLUTBAKTERIZIDIE DURCH
WEIN, ÄTHANOL UND SCHWEFLIGE SÄURE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz

vorgelegt von
HANS BEREND GROENEVELD
aus Jugenheim / Rheinhessen

Mainz

1960

Dekan: Prof. Dr. H. LEICHER
Referent: Prof. Dr. Dr. G. GILLISSEN
Koreferent: Prof. Dr. H. KLIEWE
Tag der mündlichen Prüfung: 22.6.1960

Datum des Diploms 22. Juni 1960



GESAMTHERSTELLUNG:
DITTERS BÜRODIENST, MAINZ, Augustinerstraße 64-66

INHALT

	Seite
1. Einleitung und Ziel der Arbeit	1
2. Die ernährungshygienische Bedeutung von Wein, Äthanol und schwefliger Säure	1
3. Die Beeinflussung der Blutbakterizidie (lit. Übersicht)	5
4. Die Serumeiweissfraktionen vom Kaninchen	6
Eigene Versuche:	9
5. Material und Methoden (Versuchsanordnung)	9
6. Ergebnisse:	11
a) Die Veränderung der Blutbakterizidie nach einmaliger Verab- reichung der Versuchslösungen	11
b) Die Veränderung der Blutbakterizidie nach mehrmaliger Verabreichung der Versuchslösungen	14
c) Die Veränderung des Differentialblutbildes nach einmaliger und mehrmaliger Verabreichung der Testlösungen	16
d) Die Veränderung des Komplementtiters unter den Versuchs- bedingungen	19
e) Versuche zur Erfassung einer Veränderung des Serumeiweiss- bildes unter den Versuchsbedingungen	20
7. Diskussion	25
8. Zusammenfassung	27
9. Literatur	28

1. EINLEITUNG UND ZIEL DER ARBEIT

Seit langem ist der Begriff der Blutbakterizidie bekannt. Dieser Begriff konnte trotz neuerer Untersuchungen über bestimmte unspezifische antibakterielle Faktoren des Blutes wie z. B. das Properdin, das nur gegen bestimmte Bakterien oder Phagenstämme aktiv sein soll, nicht ersetzt werden. Da die schweflige Säure im Wein nach wie vor ein aktuelles Interesse besitzt und ihr Einfluss auf die Blutbakterizidie gelegentlich im Rahmen einer allerdings nur sehr kurzen Besprechung diskutiert wurde, sollte die Frage untersucht werden, ob schweflige Säure und im Vergleich dazu Äthanol und Wein einen Einfluss auf die Blutbakterizidie - bei Verwendung von Kaninchen als Versuchstieren - haben.

Parallel zu diesen Untersuchungen sollten die Veränderungen des Differenzialblutbildes, des Komplementtiters und des Serumeiweissbildes erfasst werden. Alle Versuche wurden sowohl nach einmaliger als nach mehrmaliger Verabreichung der Testlösungen durchgeführt. -

2. DIE ERNÄHRUNGSHYGIENISCHE BEDEUTUNG VON WEIN,

ÄTHANOL UND SCHWEFLIGER SÄURE

Die Bedeutung des Weines in medizinischer Sicht wurde oft diskutiert. Dabei wurde auf der einen Seite der Weingenuss in gesunden und kranken Tagen in extremer Weise empfohlen, auf der andern Seite als gesundheitsschädlich abgelehnt. Hinzuweisen ist auf die geradezu unverantwortliche Verordnungsweise der Ärzte im 18. und 19. Jahrhundert, bei der Patienten mit inneren Erkrankungen unglaublich grosse Mengen von Wein und Weindestillaten verabreicht wurden (KLEWE 1959). Andererseits können Gaben von Wein in mässigen Dosen zweifellos bei postinfektiösen Zuständen wegen der leicht stimulierenden Wirkung günstig sein.

Hervorgehoben wurde auch der Gehalt des Weines an Vitaminen. Dabei sind besonders zu nennen die Vitamine der Gruppen A, B (B_1 - B_5), C und D. Allerdings ist der Gehalt des Weines an Vitaminen abhängig von der Weinsorte, der Verarbeitung und der Lagerungszeit (RANDOIN, MORGAN u. Mitarbeiter).

Schweflige Säure soll nach den Untersuchungen von PFANNENSTIEL und ECKHARD den Vitamin-C-Gehalt reduzieren.

Zu erwähnen ist ferner die Bedeutung des Alkohols als Energielieferant. Nach einer gewissen Gewöhnung tritt auch eine Eiweissparwirkung ein (POULSSON).

Genannt werden überdies die im Wein meist vorhandenen Mineralien Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Mangan, Fluor, Bor, Silizium, Chlor, Jod, Eisen usw. WENT sagt, dass zwei Liter Wein den mineralischen Tagesbedarf eines Erwachsenen mit Ausnahme von Phosphat und Kalk decken.

Die ernährungshygienische Bedeutung des Alkohols wurde wiederholt untersucht, besonders weil die Sorge über die Entstehung der gefürchteten Leberzirrhose nicht unbegründet ist. So beobachtete SIMMONDS unter Patienten mit Leberzirrhose 60 % Alkoholiker. NAUNYN stellte bei 170 Zirrhosefällen 108 Trinker fest, ein Ergebnis, das in ähnlicher Weise von anderen Autoren, wie z.B. KLING, EPPINGER, HOWARD, WATSON u.a. bestätigt wurde. Demnach ist die ätiologische Beziehung zwischen Leberzirrhose und Alkoholkonsum wahrscheinlich. Andererseits können Alkoholiker aber auch durchaus normale Lebern haben, wie z.B. von SAGLAM beschrieben wurde.

Der aufgenommene Äthylalkohol wird schnell resorbiert (20 % schon durch die Magenschleimhaut). Im wesentlichen handelt es sich um eine reine Diffusion und weniger um einen aktiven Stoffwechselprozess. Nach der Resorption kommt es bis zur Erreichung des Diffusionsgleichgewichtes zu einer Verteilung in der gesamten wässrigen Phase des Organismus, wobei gleichzeitig die Eliminierung des Alkohols (oxydativer Abbau und Ausscheidung des unveränderten Alkohols durch Nieren, Lunge und Haut) einsetzt. Der oxydative Abbau des Äthanol erfolgt fast ausschliesslich in der Leber über Acetaldehyd und Essigsäure. Man nimmt an, dass in der Leber 8 - 10 gr Alkohol pro Stunde umgesetzt werden können. Nicht uninteressant ist, dass es im Tierversuch auch nach langanhaltender und reichlicher Verfütterung von Äthanol nicht gelang, mit Regelmässigkeit eine Zirrhose zu erzeugen. Andererseits - und das ist für die ernährungshygienische Diskussion der Frage wichtig - führt auch im Tierexperiment eine Alkoholintoxikation zu einer ähnlichen Zirrhose wie beim Menschen, wenn gleichzeitig eine Einwirkung bakterieller oder chemischer Gifte vorliegt. Man dachte deshalb auch an die Bedeutung einer Aufnahme von giftigen Darminhaltstoffen bei gleichzeitigem Alkoholabusus für die Entstehung von Leberzirrhosen.

Zu dieser Vorstellung von der enteralen Entstehung der Leberzirrhose kommen

noch neuere Gesichtspunkte, vor allem die Vorgänge bei der Entstehung der sog. Fettleber. Die Fettleber kann als Vorstadium der Zirrhose aufgefasst werden. Im Tierexperiment führen Gaben von Zucker und Alkohol durch Verdrängung lipotroper Substanzen zum Auftreten einer Fettleber (BEST, LUCAS, RIDOUT). Bei gleichzeitiger Verabreichung von Cholin oder Methionin bleibt diese Schädigung aus. BECKMANN sieht die Ursache für die Entstehung einer Fettleber und Zirrhose in einer Eiweissmangelerscheinung und durch Alkohol herborgerufenen Resorptionsstörung infolge einer chronischen Entzündung der Magen-Darmschleimhaut. Nach den Untersuchungen von LANG kommt bei Mangel an lipotropen Substanzen eine Fetteinwanderung ins Lebergewebe dadurch zustande, dass Fettsäure, die in grossem Umfang in der Leber durch Biosynthese entstehen, normalerweise durch Lecithin - ein besonderes, in der Leber gebildetes, Cholin enthaltendes Phosphatid - abtransportiert werden. Der Abtransport ist bei Cholinmangel gestört. Wichtig ist ferner noch das in biologisch hochwertigem Nahrungseiweiss enthaltene Methionin, da der Körper Cholin nur in Anwesenheit dieser Substanz bilden kann.

Nicht geklärt ist aber die Frage, ob die Leberzellen durch Alkohol auch auf direktem Wege geschädigt werden können. Untersuchungen der Leberfunktionen bei gesunden Personen nach einmaligen alkoholischen Exzessen ergaben widersprechende Resultate (ZIEVE, HILL).

In Bezug auf alle diese Untersuchungen ist zu betonen, dass der chronische Missbrauch von Alkohol dann gefährlich wird, wenn die Leber zusätzlich durch andere bakterielle und chemische Giftstoffe geschädigt wird.

Schweflige Säure wird dem Wein zugesetzt, um ihn vor oxydativen Veränderungen zu schützen, und um die für die Geschmacksbildung erforderlichen sog. Reduktone zu bilden. Während schweflige Säure als Gas ein Gift ist, wurde es gelöst früher oft den Lebensmitteln (Hackfleisch) zugesetzt, um den Geruch zu verdecken und die Farbe zu erhalten. Das Verfahren muss natürlich abgelehnt werden, um den Verkauf von verdorbenen Lebensmitteln zu verhüten.

Der schwefligen Säure im Wein wird häufig zugeschrieben, dass sie für die allgemeine Beeinträchtigung des Wohlbefindens und Kopfschmerzen nach Weingenuss verantwortlich sei. Dabei ist zu klären ob und in welchem Umfang die schweflige Säure wirklich als Ursache anzusehen ist und in welche biologischen Reaktionen sie eingreift. Obwohl diese Frage häufig diskutiert wurde, gibt es nur wenige stichhaltige Angaben darüber. Eine der ältesten

und zugleich ausführlichsten Untersuchungen in dieser Richtung ist die von LEUCH, wobei über biologische Wirkungen der schwefligen Säure an einer grösseren Zahl von Versuchspersonen unter genau definierten Versuchsbedingungen berichtet wurde. Die Versuche ergaben zunächst, dass die individuelle Reaktion recht unterschiedlich ist. Nach Verabreichung von 45 mg freier schwefliger Säure bzw. 250 mg gebundener schwefliger Säure jeweils in 0,3 l Wein, beschrieb ein Teil der Versuchspersonen als subjektive Empfindung nur ein Kratzen im Hals und leichten Kopfschmerz. Über starke Kopfschmerz und Diarrhoen wurde von den gleichen Personen nach Verabreichung von 55 mg freier und 350 mg gebundener schwefliger Säure geklagt. Auf der anderen Seite vertrugen aber weitere Versuchspersonen insgesamt 530 mg freie schweflige Säure, die in 8 Dosen von 45 - 95 mg im Laufe von 23 Tagen gegeben wurden, bzw. 900 mg gebundene schweflige Säure, die in 3 Dosen von 250 - 300 mg innerhalb von 3 Tagen verabreicht wurden, ohne irgendwelche Veränderungen des Allgemeinbefindens anzugeben. Basierend auf diesen Versuchen empfahl LEUCH deshalb zulässige Höchstkonzentrationen von 200 mg gebundener und 20, gegebenenfalls 40 mg freier schwefliger Säure pro Liter Wein. ROST und FRANZ untersuchten im Tierexperiment an Kaninchen die Toxizität von schwefliger Säure. Natürlich ist ein Schluss vom Tierversuch auf das Verhalten des Menschen keineswegs immer möglich. Es kann jedoch mit Sicherheit gesagt werden, dass schweflige Säure nicht nur als Gas, sondern auch gelöst eine deutliche Giftwirkung hat. So waren für Kaninchen nach oraler Verabreichung 0,25 gr schwefliger Säure pro kg tödlich, nicht aber mehr 0,20 gr pro kg. Der Tod erfolgte durch Atemlähmung mit Beteiligung des Gefässystems. Kleinere Dosen, die Hunden gegeben wurden, verursachten auch nach jahrelanger Verabreichung keinerlei Symptome.

Stellt man diesen Ergebnissen das vielgenannte Ärztegutachten von Bordeaux (zit. v. SCHANDERL) gegenüber, so erscheint die darin geäußerte Auffassung einer völligen Unschädlichkeit der schwefligen Säure für den Menschen, selbst bei Verabreichung hoher Dosen, recht fraglich. SCHANDERL lehnt die Unbekömmlichkeit reichlich geschwefelter Weine für Menschen mit hypacidem Magensaft darauf zurück, dass freie aus der zugeführten gebundenen schwefligen Säure schnell entbunden wird.

Untersuchungen über die Beeinflussung des Blutzuckerspiegels durch schweflige Säure ergaben, dass Wein, äquivalente Mengen von Äthanol und z. T. hohe Dosen von schwefliger Säure keine beweisende Änderung des Blutzuckerspiegels auslösen, während schweflige Säure die nach Glucosebelastung oder

nach Injektion von Suprarenin aufgetretene Hyperglykämie zu hemmen scheint (KLIEWE, GILLISSEN). Diese Resultate könnten mit der Beeinflussung der A-Zellen des Pankreas durch schweflige Säure als Reduktionsmittel erklärt werden, da die an Vitamin C reichen A-Zellen durch reduzierende Stoffe blockiert werden können. Interessant ist auch, dass orale Gaben von schwefliger Säure zu einer deutlichen Stimulierung, einer Stress Situation der Nebennierenrinde führen. Diese Wirkung kann durch gleichzeitige Zufuhr von Äthanol gebremst werden (KLIEWE, GILLISSEN).

3. DIE BEEINFLUSSUNG DER BLUTBAKTERIZIDIE (literarische Übersicht)

CREMER beschrieb bei Kaninchen, die tägliche Gaben von 3 mg schwefliger Säure erhielten, bei einer Versuchsdauer von 110 Tagen am Ende dieser Zeit eine Abnahme der antibakteriellen Kraft des Blutes. Bei den Kontrolltieren fand sich dagegen kaum eine Änderung.

PFANNENSTIEL, HOLSEN und HENRICH beschrieben einen Anstieg der Blutbakterizidie nach Vitamin-C Gaben. Schweflige Säure soll dies Vitamin in Traubensäften reduzieren (BÜSING, RAABE). Danach wären die Resultate von PFANNENSTIEL und ECKHARD über eine Abnahme der Blutbakterizidie durch geschwefelten im Verhältnis zu ungeschwefeltem Traubensaft verständlich. Allerdings ist einzuwenden, dass aus diesen Versuchen noch nicht deutlich wird, ob die Unterschiede zwischen Versuch und Kontrolle durch einen direkten Effekt der schwefligen Säure oder durch den Verlust an Vitamin-C bedingt sind.

Besonders ist darauf hinzuweisen, dass sich alle Versuchstiere in einem Sonderzustand befanden, da sie unter einer Mangelkost standen, die sehr niedrige Bakterizidiewerte bei Versuchsbeginn garantierte. Ein Schluss auf die natürlichen Verhältnisse ist daher nur schwer möglich.

In den eigenen Versuchen sollte geklärt werden, ob Wein, Äthanol und schweflige Säure einen Einfluss auf die Blutbakterizidie haben, wenn die Versuchstiere unter üblichen Lebensbedingungen gehalten werden. -

4. DIE SERUMEIWEISSFRAKTIONEN VOM KANINCHEN

Da die im experimentellen Teil der Arbeit beschriebenen Versuche auch Veränderungen des Serumeiweissbildes der Tiere umfassen, sei kurz auf das normale Serumeiweissbild des Kaninchens eingegangen.

EDSALL beobachtete die erhebliche individuelle Schwankung innerhalb einer Tierart bei quantitativer Bestimmung der Eiweissfraktionen mit der Papierelektrophorese. Nach seinen Untersuchungen schwanken beispielsweise die Serumalbuminwerte bei der Kuh zwischen 34,8% und 47,1%, beim Schwein zwischen 46,8% und 64,4%. Solche Schwankungen würden beim Menschen schon als pathologisch bezeichnet werden müssen. Natürlich ist zu überlegen, ob eine solch grosse Streubreite nicht auf eine Erkrankung der Tiere zurückgeführt werden könnte. EVERBECK konnte in Bestätigung dieser Annahme bei Zuchtkaninchen die Erhöhung des γ -Globulinspiegels auf eine Coccidiose zurückführen. Für die experimentelle Praxis ist es aber schwer, den Gesundheitszustand der Tiere, auch bei Tieren aus gleichen Zuchten, genau genug zu beurteilen. Die beste Möglichkeit, diesen Fehler weitgehend auszuschliessen, ist die Verwendung genügend grosser Tierkollektive.

In Tab. 1 und Tab. 2 sind zum Vergleich der eigenen Werte die von BERG und SCHEIFFARTH und von DEUTSCH und GOODLOE gefundenen prozentualen Werte für die Eiweissfraktionen beim Kaninchen wiedergegeben.

Tab. 1: Der prozentuale Anteil der Serumproteine vom Kaninchen mit Angabe der Streuung bei einem Kollektiv von 5 Tieren
(nach DEUTSCH und GOODLOE)

Albumine	alpha-	beta-	gamma-Glob.	Fibrinog.	Album. faktor Globul.
63,3	11,5	13,0	4,3	7,9	1,7
$\pm 1,1$	$\pm 0,8$	$\pm 0,7$	$\pm 0,3$	$\pm 0,8$	

Tab. 2: Extremwerte der bei 16 gesunden Kaninchen gefundenen Serumproteine
(nach BERG und SCHEIFFARTH)

Album.	alpha ₁ -	alpha ₂ -	beta ₁ -	beta ₂ -	gamma-Gob.
62,0-72,0	6,0-10,0	3,0- 6,0	7,0- 10,0	2,0- 3,0	8,0-13,0

DEUTSCH und GOODLOE geben bei Kaninchen aus verschiedenen Zuchten für die einzelnen Fraktionen eine recht kleine Streubreite der Werte an, obwohl nur Kollektive von 5 Tieren benutzt wurden.

BERG und SCHEIFFARTH versuchten, die Artspezifität von Tierseren auf Grund der Beweglichkeit einzelner Proteinfractionen zu charakterisieren. Die Autoren beobachteten beim Kaninchen folgende, in relativen Werten angegebene elektrophoretische Beweglichkeit der Fraktionen, wobei die von γ -Globulin als 0, die von Albumin als 100 eingesetzt wurden.

Tab. 3: Die relative Beweglichkeit der Proteinfractionen
(nach BERG und SCHEIFFARTH)

Serum- art	Alb.	alpha ₁ -	alpha ₂ -	beta-	gamma-Glob.
Mensch	100	70 $\pm$ 5,0	50 $\pm$ 5,0	27,5 $\pm$ 5,0	0
Ratte	100	75 $\pm$ 5,0	50 $\pm$ 3,75	23,75 $\pm$ 3,75	0
Kaninchen	100	57,5 $\pm$ 5,0	42 $\pm$ 5,0	27,5 $\pm$ 3,75	0

Die Autoren weisen daraufhin, dass die verwandten grossen Kollektive von 80 Ratten-, 75 Kaninchen- und 65 Menschenseren eine genügend gesicherte statistische Auswertung erlauben. Auf die grosse Streuung der Serumproteinwerte bei gesunden Kleintieren (Maus) weist auch SCHNEIDER hin.

Für die elektrophoretische Auswertung von Tierseren ist die Frage der Stabilität der Fraktionen von besonderer Bedeutung. (Übers. s. EVERBECK und WUNDERLY).

Die Art der Blutentnahme spielt für die Ergebnisse insofern eine Rolle, als NORDMANN nachwies, dass eine Stauung der Vene von 6 Minuten das Gesamteiweiss von 7,3 gr% auf 9,5 gr% und das Albumin von 4,1 gr% auf 4,7 gr% ansteigen lässt. Es wird deshalb empfohlen, die Blutentnahme nach möglichst kurzer Stauung durchzuführen. Im Tierversuch muss also Wert darauf gelegt werden, dass bei allen Entnahmen gleiche Bedingungen geschaffen werden.

Im Gegensatz dazu soll eine vorausgegangene Mahlzeit keinen Einfluss auf die papierelektrophoretisch erhaltenen Serumproteinwerte haben. Die Ergebnisse stammen allerdings aus Untersuchungen an Patienten (BUBB, PEDRAZ ZINI).

An sonstigen Faktoren ist noch der Einfluss der Schilddrüse zu nennen. VILLAR-CASO zeigte im Tierversuch, dass die Konzentration der Globulinfraktionen unter Tyroxin abnimmt.

Wichtig ist ferner auch die Frage, wie lange die Seren ohne Veränderung des Serumeiweissbildes aufbewahrt werden können. Nach MOORE, ROBERTS, COSTELLO und SCHONBERGER verschwindet die α -Zacke, wenn das Serum bei Zimmertemperatur 8 Tage steht. Dies Resultat wurde von WATERSTRADT bestätigt. Darüberhinaus wurde von diesem Autor noch mitgeteilt, dass durch Stehen der Seren bei Zimmertemperatur innerhalb von 3 Tagen die α -Fraktion abnimmt, der später auch die β -Fraktion folgt, unter gleichzeitiger Zunahme der γ -Fraktion.

LANG, FEINEN und CREMER untersuchten Serumkonserven ohne Konservierungsmittelzusätze nach einer Lagerzeit bis zu 6 Jahren bei Zimmertemperatur unter Luftabschluss. Sie gewannen den Eindruck, dass keine nennenswerten Veränderungen vorgegangen seien. GRUNDMANN und FISCHER fanden schon nach 8 Tagen eine stets grösser werdende Globulinvermehrung besonders im γ -Bereich, vom 16. Tag an auch im β -Bereich. AUERSWALD und WENZL dagegen fanden, dass sich diese Veränderungen noch im Bereich der methodischen Streuung befinden. Die Aufbewahrung bei tieferen Temperaturen zeitigt erwartungsgemäss bessere Ergebnisse. Wurden die Seren bei Kühlschranktemperatur aufbewahrt, so zeigten sich innerhalb von 8 Tagen keine Veränderungen.

Seren, die über 37° erhitzt wurden, ermöglichten keine elektrophoretische Trennung mehr, da sie irreversibel verändert waren. -

Eigene Versuche

5. MATERIAL UND METHODEN, VERSUCHSANORDNUNG

Als Versuchstiere dienten männliche Kaninchen mit einem Gewicht zwischen 2 200 und 2 600 gr. Die Tiere wurden bei normaler Kost in stets den gleichen Stallungen gehalten. Vom Vorabend der Blutentnahme an erhielten die Tiere keine Nahrung mehr. Das Blut wurde aus der Ohrvene unmittelbar vor und in verschiedenen Intervallen nach einmaliger und mehrmaliger Verabreichung der Testlösungen entnommen (1 ml Blut + 0,25 ml 3,8%iger steriler Natriumcitratlösung). Für die Bakterizidieteste wurden auf diese Weise nach vorhergehendem Abreiben mit Xylol 2 ml durch Ohrvenenpunktion steril gewonnen. Anschliessend wurden weitere 2 ml durch auslaufenlassen des Blutes aus dem Gefäss für die Bestimmung des Differentialblutbildes, des Komplementtiters und der Serumeiweisswerte gewonnen. Zu berücksichtigen ist dabei, dass die Blutproben, die so entnommen wurden, nicht immer frei von hämolytischen Erscheinungen waren, was bekanntermassen im Tierversuch nicht leicht zu verhindern ist. Das Serum für die elektrophoretische Untersuchung wurde durch schonendes Zentrifugieren gewonnen und in der Tiefkühltruhe bei -20° C aufbewahrt.

Zu jedem Versuch wurden 5 Tiere verwandt. Bei den Einzelversuchen erhielten die Tiere einmal und bei den Dauerversuchen 5 mal je 30 ml der Versuchslösungen oral mit der Schlundsonde verabreicht. Bei den Dauerversuchen wurden die fünf Einzelgaben an fünf hintereinanderliegenden Tagen gegeben.

Die Blutbakterizidie wurde nach den Angaben von KRIEDEL und SPODE bestimmt. Erfasst wurde die Abnahme der Zell (kolonie) zahl von Staphylokokken nach vierstündiger Inkubation des Blut-Staphylokokkengemisches bei 37° C. Dabei wurde jede Blutprobe zu gleichen Teilen mit einer auf 10^{-4} mit steriler physiologischer NaCl-Lösung verdünnten, 18 h alten Bouillonkultur von *M. pyogenes* var. aureus SG 511 versetzt. Aliquote Anteile wurden unmittelbar danach, sowie nach 4 h langer Inkubation bei 37° C bei entsprechender Vorverdünnung mit aqua dest. ster. (zur Erzielung einer gut zählbaren Kolonienzahl) zu je 0,3 ml auf drei Agarplatten ausgesät und die

prozentuale Abnahme der Kolonienzahl je Volumeneinheit als Mass der Blutbakterizidie berechnet.

Von jeder Serumprobe wurde ferner unter Verwendung einer 4%igen Suspension von 3 mal mit phys. NaCl-lösung gewaschenen und in einer täglich neu hergestellten Versünnung (1:5) von Veronalpuffer (pH 7,4) aufgenommenen sensibilisierten Hammelerythrozyten in üblicher Weise der Komplementtiter bestimmt.

Darüberhinaus wurde von jeder entnommenen Blutprobe eine Leukozyten- und Erythrozytenzählung durchgeführt und ein Differenzialblutbild (SCHERMER) ausgezählt.

Untersucht wurde der Einfluss von Wein, Äthanol, schwefliger Säure und Wasser als Kontrolle.

Da Kaninchen nicht brechen können, kam das gesamte mit der Schlundsonde verabreichte Volumen der Testlösung zur Wirkung.

Die Auswertung des Serumeiweissbildes erfolgte mit der papierelektrophoretischen Methode. Verwandt wurde dazu Filtrierpapier (Genuine WHATMANN Filter Papier No 1) und das Gerät "Elphor H" (nach GRASSMANN und HANNIG, Beschr. s. ANTWEILER) der Fa. BENDER & HOBEIN. Im sg. "Integrator" erfolgt dabei die kurvenmässige Darstellung und die planimetrische Auswertung gleichzeitig. Die auf diese Weise erhaltenen absoluten Werte wurden anschliessend in prozentuale umgerechnet. Als Puffer diente MICHAELIS Puffer (0,1 m, pH 8,6) folgender Zusammensetzung: 29,42 g Veronalnatrium DAB 6 19,42 g Natriumacetat 270 ml n/10 HCl auf 3 Liter aqua dest. Aufgetragen wurden 0,005 ml Serum; die Laufzeit betrug 12 h. Das Anfärben der Streifen erfolgte mit Amidoschwarz 10 B 10 min. lang mit anschliessender Entfärbung in Methanol-Eisessig (9:1) für ca. 3 h. Nach Lufttrocknen wurde das Aufhellen der Streifen mit Transparenzöl (Paraffin) vorgenommen.

Die Spannung bei der elektrophoretischen Trennung betrug 80 Volt und wurde für jede Kammer vor dem Versuch eingestellt und nach Versuchsende kontrolliert. Die Konstanz der Spannung wurde durch einen Konstanthalter gewährleistet.

Da die Ergebnisse der elektrophoretischen Untersuchungen ergaben, dass sich die Serumeiweissfraktionen offenbar auch bei -20°C . während der langen Lagerzeit (7 Monate) veränderten, wurde mit 10 Kaninchen ein weiterer Versuch zur Erfassung dieser Veränderungen angesetzt. Dabei wurde bei 10

Kaninchen gleichen Gewichtes (2 400 g) die Ohrvene nach vorhergehendem kurzem Abreiben mit Alkohol, angeschnitten und 1 ml des frei laufenden Blutes aufgefangen. Auf diese Weise gelang es, die Seren nach der Zentrifugation hämolysefrei zu halten. Mit allen Seren wurde sofort eine elektrophoretische Trennung der Proteinfractionen vorgenommen. Der Rest der Seren wurde bei - 20° C in der Tiefkühltruhe drei Wochen lang aufbewahrt und dann in gleicher Weise noch einmal untersucht.

Bei dem verabreichten Wein handelte es sich um einen Weisswein (1957er Jüngerheimer Angerborn nat. Gewürztraminer), dessen Analyse ergab: spez.

Gew. (bei 20° C) 1,007, spez. Gew. des

alkohol. Destillates 0,9869

Alkohol 76,6 g/l (1=1 000 g) = 9,70 Vol%

Zucker 11,5 g/l

Ges. Säure (Weins.) 9,9 g/l

freie schw. Säure 22 mg/l

Reines Äthanol wurde in einer Konzentration von 12% und schweflige Säure in einer solchen von 300 mg/l gegeben. Um mit schwefliger Säure eine Beeinflussung der Blutbakterizidie sicher zu erhalten, wurde eine weitaus höhere Konzentration als im Wein gewählt, da eine prinzipielle Aussage über eine Beeinflussung schlechthin erwünscht war. -

6. ERGEBNISSE

a) Die Veränderung der Blutbakterizidie nach einmaliger Verabreichung der Versuchslösungen

Die Ergebnisse der Blutbakterizidie nach einmaliger Gabe von Wein, Äthanol, schwefliger Säure und Wasser zur Kontrolle sind in Tab. 4 - Tab. 7 wiedergegeben, Tab. 8 enthält die daraus errechneten Mittelwerte.

Tab. 4: Die prozentuale Abnahme der Kolonienzahlen (Blutbakterizidie) bei 5 Versuchstieren nach einmaliger Verabreichung von 30 ml Leitungswasser (Kontrolle)

Versuch	Stunden nach Verabreichung der Testlsg.						5 Tg.
	0	1	3	6	24	48	
1	78,6	83,3	82,0	66,1	70,0	82,5	94,2
2	82,7	89,0	82,6	91,65	96,08	90,25	74,2
3	78,0	76,6	53,5	75,8	87,5	97,14	80,0
4	73,4	90,1	91,85	86,5	90,55	84,7	74,6
5	94,31	84,2	90,4	84,3	94,4	89,25	16,9

Tab. 5: Die prozentuale Abnahme der Kolonienzahlen bei 5 Versuchstieren nach einmaliger Verabreichung von 30 ml schwefl. Säure (300 m/l)

Versuch	Stunden nach Verabreichung						5 Tg.
	0	1	3	6	24	48	
1	78,6	83,6	82,1	66,1	88,2	83,9	89,6
2	87,05	92,5	79,5	83,5	98,29	88,9	86,6
3	86,8	59,2	54,2	45,6	89,9	88,1	97,12
4	68,8	91,22	96,72	74,0	79,6	87,6	79,2
5	70,8	68,4	90,8	90,3	89,58	89,7	79,3

Tab. 6: Die prozentuale Abnahme der Kolonienzahlen bei 5 Versuchstieren nach einmaliger Verabreichung von 30 ml Athanol (12 Vol%)

Versuch	Stunden nach Verabreichung						5 Tg.
	0	1	3	6	24	48	
1	88,2	91,27	91,38	93,75	90,45	9,2	93,82
2	93,68	44,7	95,3	91,88	89,5	88,4	95,89

3	90,7	91,55	77,5	87,5	78,2	84,9	81,4
4	76,8	94,88	86,7	68,4	69,0	86,2	85,7
5	59,9	79,8	84,7	72,2	97,41	93,35	51,5

Tab. 7: Die prozentuale Abnahme der Kolonienzahlen bei 5 Versuchstieren nach einmaliger Verabreichung von 30 ml Wein

Versuch	Stunden nach Verabreichung						5. Tg.
	0	1	3	6	24	48	
1	75,6	83,6	95,45	80,2	63,6	23,8	90,68
2	52,6	84,5	92,55	86,9	77,1	76,5	87,1
3	58,0	72,3	70,7	79,4	81,85	85,0	82,5
4	44,3	88,4	69,2	94,25	88,6	84,9	87,2
5	54,5	95,85	90,55	88,1	66,9	85,0	81,2

Tab. 8: Die mittlere prozentuale Abnahme der Kolonienzahlen (für je n=5) nach einmaliger Verabreichung der Versuchslösungen

Versuche	Stunden nach Verabreichung						5. Tg.
	0	1	3	6	24	48	
Wasser	81	84	79	80	87	88	68
schwefl. Säure	78	79	80	71	89	87	86
Athanol	81	80	87	82	85	88	81
Wein	57	84	83	85	77	71	85

In Abb. 1 sind alle Werte aus Tab. 4 - Tab. 8 graphisch dargestellt.

Aus Abb. 1 ist schon nach grober Übersicht zu vermuten, dass die mit den einzelnen Testlösungen erhaltenen Resultate sich nicht nennenswert unterscheiden. Vergleicht man die Mittelwerte statistisch unter Berücksichtigung der Streubreite mit STUDENT's -t-Test (SNEDECOR), dann ergibt sich bei keinem der Ergebnisse eine Signifikanz.

b) Die Veränderung der Blutbakterizidie nach mehrmaliger Verabreichung der Versuchslösungen

In Tab. 9 - Tab. 12 sind die entsprechenden Werte nach mehrmaliger Gabe der Versuchslösungen wiedergegeben und in Abb. 2 die graphische Darstellung aller Einzelwerte nebst der Mittelwerte.

Tab. 9: Die prozentuale Abnahme der Kolonienzahlen nach 5 maliger Verabreichung von je 30 ml schwefliger Säure (300 mg/l)

Versuch	Stunden nach der letzten Verabr.	
	24	48
1	87,2	88,8
2	95,1	79,9
3	75,9	96,8
4	87,85	89,7
5	86,5	91,2

Tab. 10: Die prozentuale Abnahme der Kolonienzahlen nach 5 maliger Verabreichung von je 30 ml Äthanol (12 Vol%)

Versuch	Stunden nach der letzten Verabr.	
	24	48
1	94,6	92,1
2	76,0	75,4
3	94,0	70,9
4	88,5	77,9
5	81,0	87,1

Tab. 11: Die prozentuale Abnahme der Kolonienzahlen nach 5 maliger Verabreichung von je 30 ml Wein

Versuch	Stunden nach der letzten Verabr.	
	24	48
1	93,2	98,18
2	97,8	89,4
3	99,0	97,88
4	98,08	96,71
5	98,35	95,1

Tab. 12: Die mittlere prozentuale Abnahme der Kolonienzahlen (für n je = 5) nach Verabreichung von je 30 ml der Versuchslösungen

Versuch mit	Stunden nach der letzten Verabr.		
	0	24	48
schweflige Säure	62	86	89
Äthanol	87	91	80
Wein	81	97	95

Aus Abb. 2 ist zu entnehmen, dass die höchsten Werte des bakteriziden Index mit Wein, die niedrigsten mit schwefliger Säure erzielt wurden. Das Ergebnis mit Äthanol nimmt eine Mittelstellung ein.

Die statistische Berechnung mit Student's-t-Test ergab jedoch beim Vergleich der Mittelwerte aus dem Äthanol- und dem SO_2 -Versuch mit denen des Weinversuchs ebensowenig eine Singnifikanz, wie der Vergleich der einzelnen Zeitwerte untereinander bei derselben Versuchsanordnung.

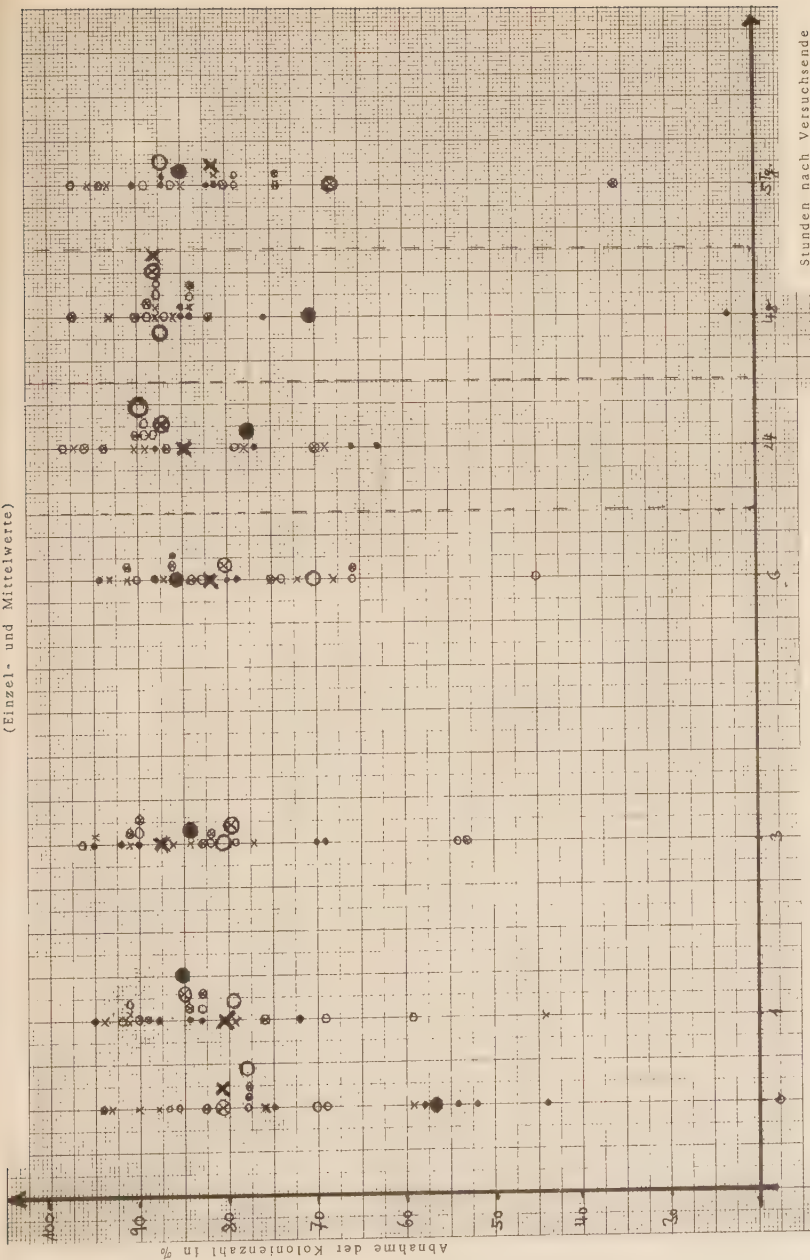
c) Die Veränderung des Differenzialblutbildes
nach ein- und mehrmaliger Verabreichung
der Versuchslösungen

Die Veränderung des Differentialblutbildes unter den Versuchsbedingungen sind in Tab. 13a und Tab. 13b wiedergegeben.

Daraus ist zu ersehen, dass bezeichnende Änderungen des Differenzialblutbildes durch die verschiedenen Versuchsanordnungen nicht zu beobachten sind. Das ist nicht zuletzt auf die grosse, für Kaninchen typische Streuung dieser Werte zurückzuführen (Übers.s. SCHIRMER). Nur grössere Änderungen könnten im Sinne einer versuchsbedingten Beeinflussung gedeutet werden. Solche waren aber nicht vorhanden.

Tab. 13a: Auswertung der Erythrozyten- und Leukozytenzählungen, sowie der Differenzialblutbilder (Mittelwerte der einzelnen Versuchsgruppen nach einmaliger Verabreichung der Testlösungen)

Versuch mit	h nach Verabr.	Erys x 10 ⁶	Leukos x 10 ³	P	(Differenzialblutbild Zellzahl in %)			
					E	L	Mon	Bas
Wasser	0	4,7 (2,8-6,3)	8,8 (7,4-10,8)	36 (11-79)	4 (1-13)	35 (17-79)	1 (0-8)	4 (0-13)
	1	4,4 (3,7-5,5)	10,8 (5,4-18,8)	27	2	59	2	10
	3	4,5 (3,6-5,6)	10,9 (6,2-16,6)	27	1	63	3	6
	6	3,5 (2,7-4,9)	8,4 (6,2-13,4)	26	1	63	3	7
	24	3,4 (2,9-3,7)	9,0 (5,2-16,2)	28	2	63	4	3
	48	2,9 (1,3-4,2)	7,2 (3,6-9,8)	47	2	43	2	6



Lagen mehrere Messpunkte an derselben Stelle, so wurden sie in derselben Höhe seitlich etwas verschoben.

Zeichenerklärung:

- = Versuche mit Wein
- x = Versuche mit Alkohol
- = Versuche mit schwefl. Säure
- ⊗ = Versuche mit Wasser (Kont.)
- = Mittelwerte für Wein
- ⊗ = Mittelwerte für Alkohol
- ⊗ = Mittelwerte für schwefl. Säure
- ⊗ = Mittelwerte für Wasser

Versuch mit	h nach Verabr.	Erys $\times 10^6$	Leukos $\times 10^3$	P	(Differenzialblutbild Zellzahl in %)			
					E	L	Mon	Bas
Wasser	5 Tg.	3,3 (2,5-4,0)	6,6 (5,2-9,0)	33	3	54	1	9
Wein	0	5,3	8,2	24	3	67	4	2
	1	4,6	6,2	35	4	56	3	2
	3	4,4	5,8	39	3	53	4	1
	6	4,2	8,0	22	4	71	2	1
	24	3,7	7,7	44	5	43	3	5
	48	3,9	8,3	44	4	46	3	3
	5 Tg.	3,4	7,4	45	1	47	4	3
Äthanol	0	4,3	7,7	47	4	44	3	2
	1	4,5	7,4	39	2	47	4	8
	3	4,8	7,9	42	2	46	2	8
	6	3,9	9,2	40	1	52	6	1
	24	4,3	8,6	39	2	49	3	7
	48	3,7	7,4	39	3	52	2	4
	5 Tg.	3,8	7,7	49	5	39	3	4
schwefl.	0	4,5	7,0	46	3	44	3	4
Säure	1	4,5	6,7	42	3	50	2	3
	3	4,3	10,2	45	1	51	1	2
	6	4,1	6,7	36	2	53	5	4
	24	3,5	9,8	40	2	54	2	2
	48	3,2	5,9	34	4	57	3	2

Versuch mit	h nach Verabr.	Erys $\times 10^6$	Leukos $\times 10^3$	P	(Differentialblutbild Zellzahl in %)			
					E	L	Mon	Bas
schwefl. Säure	5 Tg.	3,8	6,5	54	3	40	1	2

Zeichenerklärung: () = Beispiel für die Extremwerte als Ausdruck der Streuung

P = pseudoeosinophile, spezialgranulierte Leukozyten

E = eosinophile Granulozyten

L = Lymphozyten

Mon = Monozyten

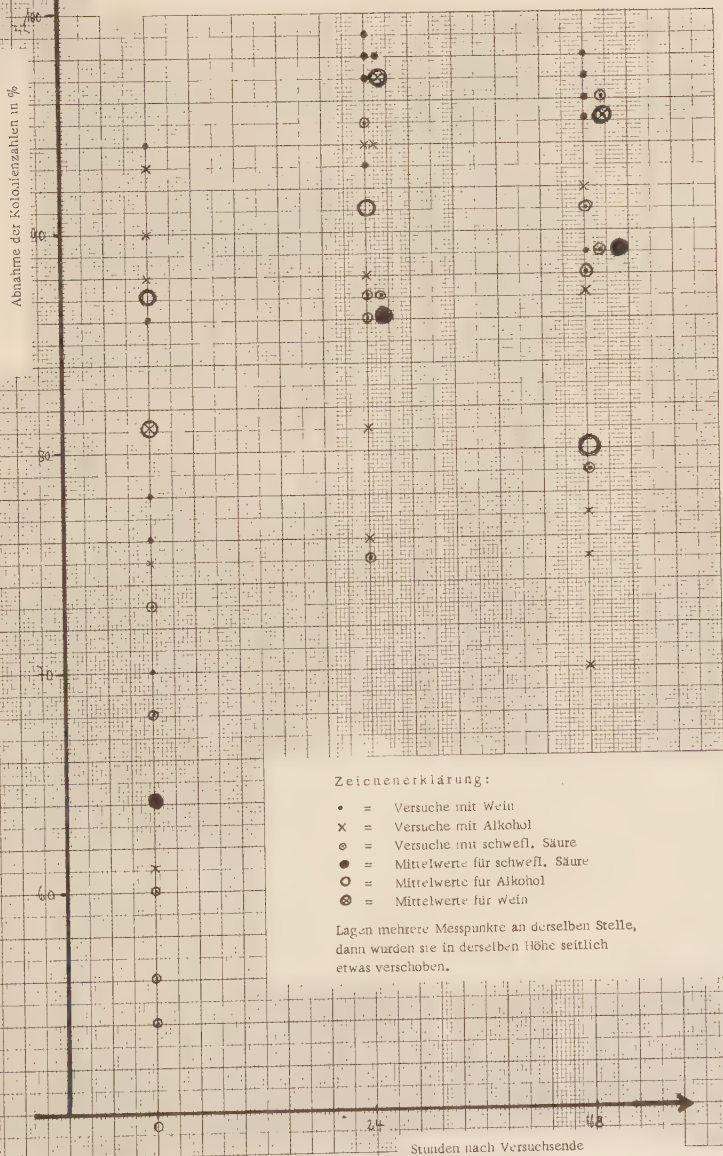
Bas = basophile Granulozyten

Tab. 13b: Auswertung der Erythrozyten- und Leukozytenzählungen sowie der Differentialblutbilder (Mittelwerte der Versuchsgruppen nach 5 maliger Verabreichung der Testlösungen)

Versuch mit	h nach Verabr.	Erys $\times 10^6$	Leukos $\times 10^3$	P	Differentialblutbild (Zellzahl in %)			
					E	L	Mon	Bas
Wein	24	4,3	5,6	48	3	43	3	3
	48	5,2	6,8	31	4	56	4	5
Äthanol	24	5,4	9,2	47	2	42	4	5
	48	5,0	7,8	4,2	4	46	3	5
schwefl. Säure	24	4,7	9,3	36	2	51	2	9
	48	4,6	8,8	34	5	46	3	12

Zeichenerklärung siehe Tab. 13a

Abb. 2: Bluthakterizidie nach mehrmaliger Gabe von Wein, Alkohol und schwefliger Säure (Einzel- und Mittelwerte)



d) Die Veränderungen des Komplementtiters
unter den Versuchsbedingungen

Die Ergebnisse der Untersuchungen über eine Veränderung des Komplementtiters nach Verfütterung der Versuchslösungen sind in Tab. 14 a und Tab. 14 b wiedergegeben.

Tab. 14a: Die Ergebnisse der Komplementtitrationen nach einmaliger Verabreichung der Testlösungen (die Zahlen bedeuten die reziproken Mittelwerte)

h nach Verabr.	Wein	Äthanol	schwefl. Säure	Wasser
0	102	44	51	70
1	44	32	51	70
3	51	57	43	28
6	51	51	71	42
24	57	64	44	44
48	83	44	51	86
5 Tg.	64	51	51	48

Tab. 14b: Die Ergebnisse der Komplementtitrationen nach 5 maliger Verabreichung der Testlösungen (die Zahlen bedeuten die reziproken Mittelwerte)

h nach Verabr.	Wein	Äthanol	schwefl. Säure
24	57	35	76
48	89	44	76

Die Streuung der in Tab. 14 a und 14 b wiedergegebenen Werte war stets mindestens $\pm 50\%$, so dass eine Nichtsignifikanz der Differenz zwischen den Mittelwerten verständlich ist.

e) Versuche zur Erfassung einer Veränderung
des Serumeiweissbildes unter den
Versuchsbedingungen

Wie eingangs besprochen, ist es kaum möglich, bei der Blutentnahme an Kaninchen genügend schonend vorzugehen, wenn ein Teil der entnommenen Blutprobe auch noch für andere, insbesondere bakteriologische Zwecke verwandt werden soll. Deshalb waren einige Seren etwas - wenn auch wenig - hämolytisch. Darüberhinaus mussten die Seren aus zeitlichen Gründen gelagert werden. Da bekannt ist, dass sich bei Lagerung unter Zimmer- und Eisschranktemperaturbedingungen das Serumeiweissbild verändert, wurden die Seren bei -20°C (Tiefkühltruhe) etwa sieben Monate aufbewahrt, dann nach schonendem Auftauen (im Wasserbad mit Eis) untersucht. Die Mittelwerte, die für die einzelnen Versuchsreihen gefunden wurden sind in Tab. 15 a und Tab. 15 b wiedergegeben.

Tab. 15a: Die prozentualen Anteile der Serumproteine nach einmaliger Gabe der Versuchslösungen (Mittelwerte aus den Versuchsgruppen)

Versuche mit	Verabr.	Alb.	alpha-	beta-	gamma-Glob.
schwefl.	0	34,5	15,9	26,8	22,8
Säure	1	34,3	14,3	24,7	26,8
n = 3	3	32,3	17,4	31,6	18,8
	6	30,6	14,5	33,3	21,9
	24	29,3	13,7	30,3	26,7
	48	37,1	15,2	28,6	19,0
	5 Tg.	30,8	11,1	36,8	28,0
Äthanol	0	44,1	13,7	16,3	25,9
n = 5	1	40,4	19,6	20,3	19,7
	3	41,5	17,7	14,3	26,4
	6	30,9	19,4	28,4	21,2
	24	44,1	16,1	15,9	23,9
	48	41,6	22,3	20,3	21,9
	5 Tg.	43,8	16,5	19,2	16,9

Versuche mit	h nach Verabr.	Alb.	alpha-	beta-	gamma-Glob.
Wein	0	44,9	16,3	18,1	24,2
n = 5	1	49,3	16,3	18,9	19,4
	3	46,9	17,7	17,1	22,3
	6	45,7	16,1	14,9	23,3
	24	42,8	13,5	21,8	12,0
	48	45,0	18,1	18,9	18,0
	5 Tg.	44,5	18,5	14,5	22,5

Wasser	0	30,3	10,9	33,8	24,9
(Kontrolle)	1	36,8	11,6	25,6	28,6
n = 4	3	37,8	15,3	20,1	27,0
	6	37,7	23,8	16,5	22,1
	24	42,4	11,7	29,3	16,7
	48	45,7	10,0	25,7	18,5
	5 Tg.	34,8	13,9	31,1	20,2

Speziell für die Ergebnisse nach einmaliger Gabe von schwefliger Säure und zur Kontrolle nach einmaliger Gaben von Wasser wurden alle Einzelwerte der beiden Kollektive für eine Beobachtungszeit von 0 - 24 h in Abb. 3 - Abb. 7 wiedergegeben.

Versuche mit	h nach Verabr.	Alb.	alpha-	beta-	gamma-Glob.
schwefl. Säure	0	36,6	16,7	22,9	23,8
	24	46,0	20,9	16,7	16,1
	48	43,9	18,3	16,7	21,2
Äthanol	0	40,6	15,5	15,1	28,8
	24	53,2	15,7	17,4	13,7
	48	50,8	14,2	15,4	19,7

Versuche mit	h nach Verabr.	Alb.	alpha -	beta -	gamma -Glob.
Wein	0	35,6	12,4	22,7	29,3
	24	55,3	14,9	13,1	20,7
	48	51,1	15,2	14,6	19,1

Aus Tab. 15 a und Tab. 15 b, ebenso aus Abb. 3 - Abb. 7 ist zu ersehen, dass sich die Mittelwerte bei den einzelnen Versuchsreihen in keine Abhängigkeit einordnen lassen, was aus der grossen Streuung der Einzelwerte eines Kollektivs zu erklären ist. Die Berechnung der Streubreite erübrigt sich deshalb.

Da im Hinblick auf die Angaben aus der Literatur dieses Ergebnis auf die lange Aufbewahrungszeit der Seren zurückgeführt werden könnte, wurden die bei einem Kollektiv von 17 Tieren gefundenen Serumeiweisswerte mit Mittelwerten und Streuung berechnet. Es handelt sich dabei um Blutproben, die den Tieren vor Versuchsbeginn entnommen worden waren. Die Ergebnisse sind in Tab. 16 wiedergegeben.

Tab. 16: Mittlere prozentuale Werte der Serumproteine mit Streuung bei einem Kollektiv von 17 Tieren (Die untersuchten Seren wurden vor Verabreichung der Testlösungen entnommen)

	Alb.	alpha	beta -	gamma -Glob.
$\bar{x}$	39,43	14,2	21,75	24,6
sd	13,96	4,33	16,77	10,37
sd %	35,4	30,5	77,1	42,2

Die in Tab. 16 wiedergegebenen Resultate bestätigen die bereits oben gefundene grosse Streuung, weshalb ein statistischer Vergleich der bei den einzelnen Seren erhaltenen Mittelwerte hinfällig wird.

Da aus der Literatur genaue Angaben über die Bedeutung der Lagerung von Seren bei tiefer Temperatur für die Veränderung des Serumeiweissbildes nicht zu entnehmen sind, da insbesondere auch die Fehlerbreite nicht berechnet wurde, andererseits aber Temperaturen von - 20° C das Serumeiweissbild offensichtlich auch verändern, wurde zusätzlich ein Versuch mit 10 Ka-

Papierelektrophoretisches Serumeiweißbild nach Gaben
von schwefliger Säure und von Wasser (Kontrolle)
(einmalige Verabreichung der Testlösungen, Untersuchung nach längerer
Lagerung der Seren bei -20°C)

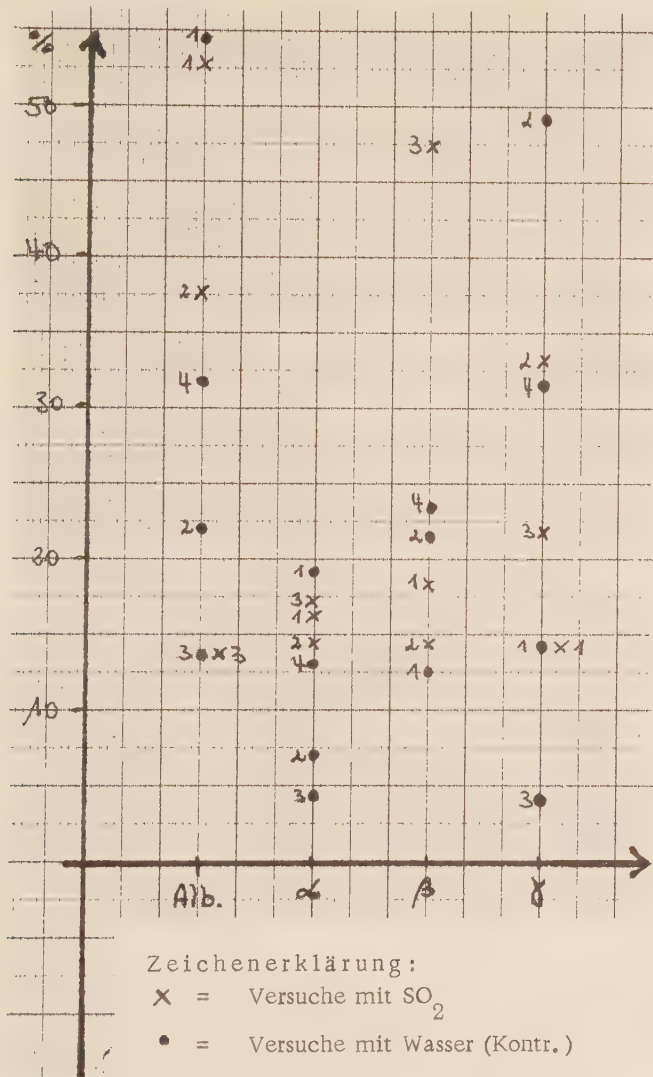


Abb.3. Serumgewinnung unmittelbar vor
Verabreichung der Versuchslösungen

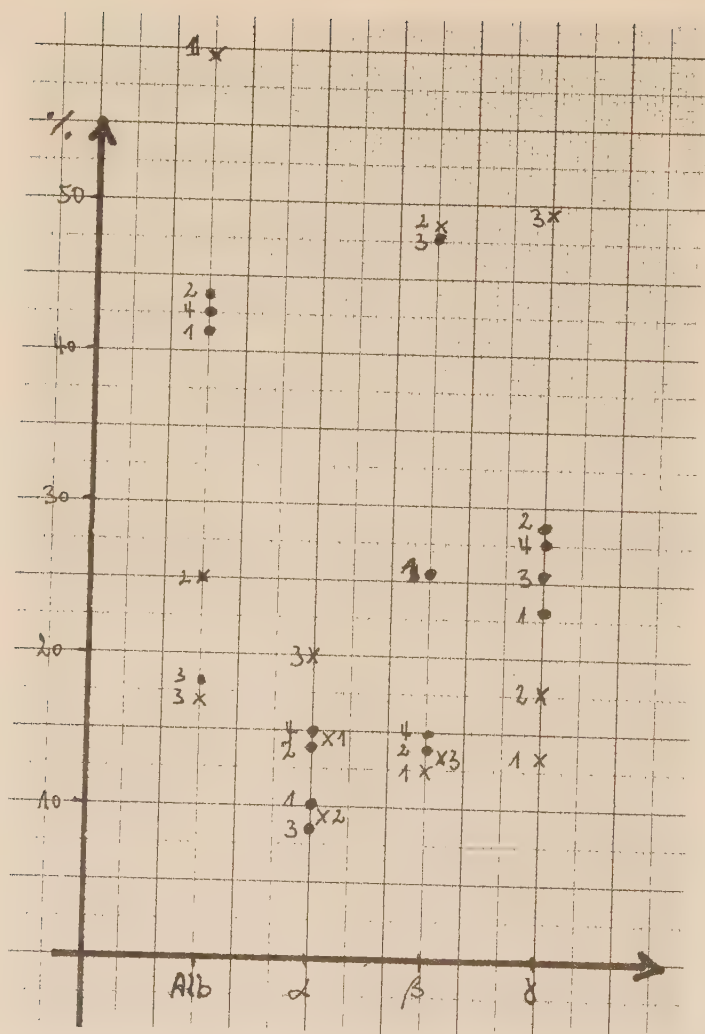


Abb.4. Serumgewinnung 1 h nach Verabreichung der Versuchslösungen. - Zeichenerklärung s. Abb. 3. - Die Zahlen bei den einzelnen Messwerten bedeuten die Nummern der Tiere für die Versuche und die Kontrollen.

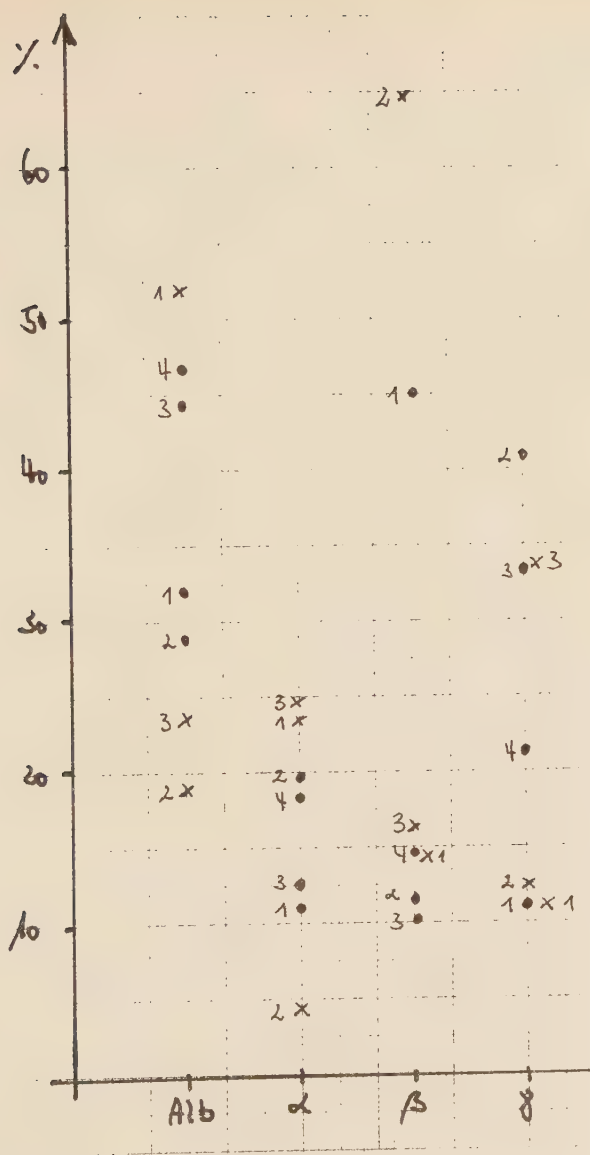


Abb. 5. Serumgewinnung 3 h nach Gabe der Testlösungen.
Zeichenerklärung s. Abb. 3.

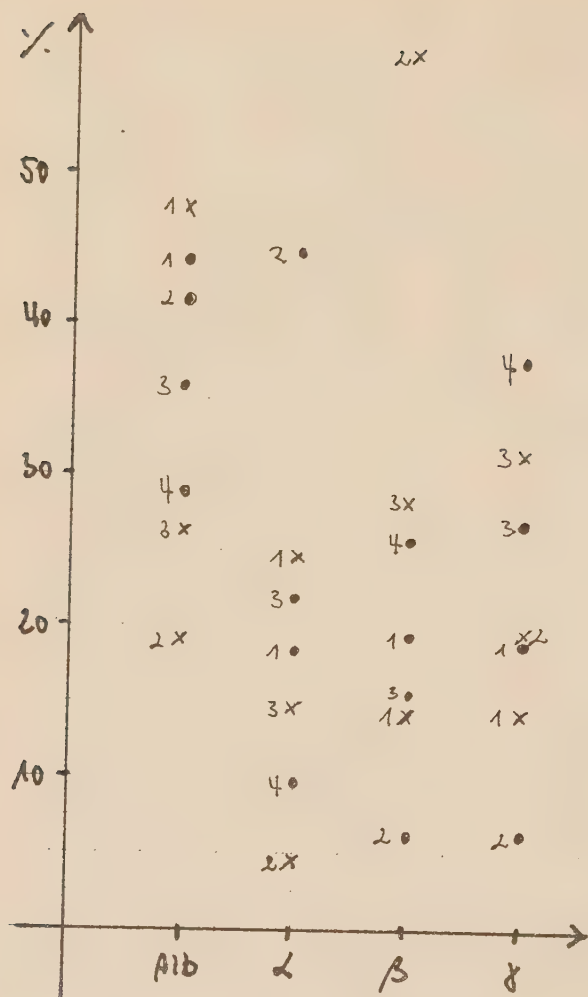


Abb. 6. Serungewinnung 6h nach Gabe der Testlösungen.
 Zeichenerklärung s. Abb. 3.

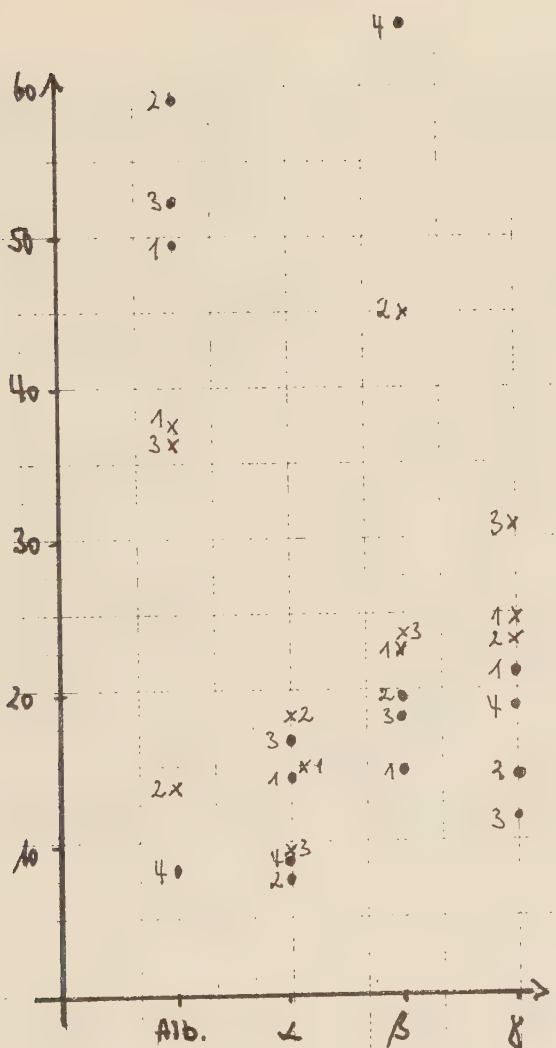
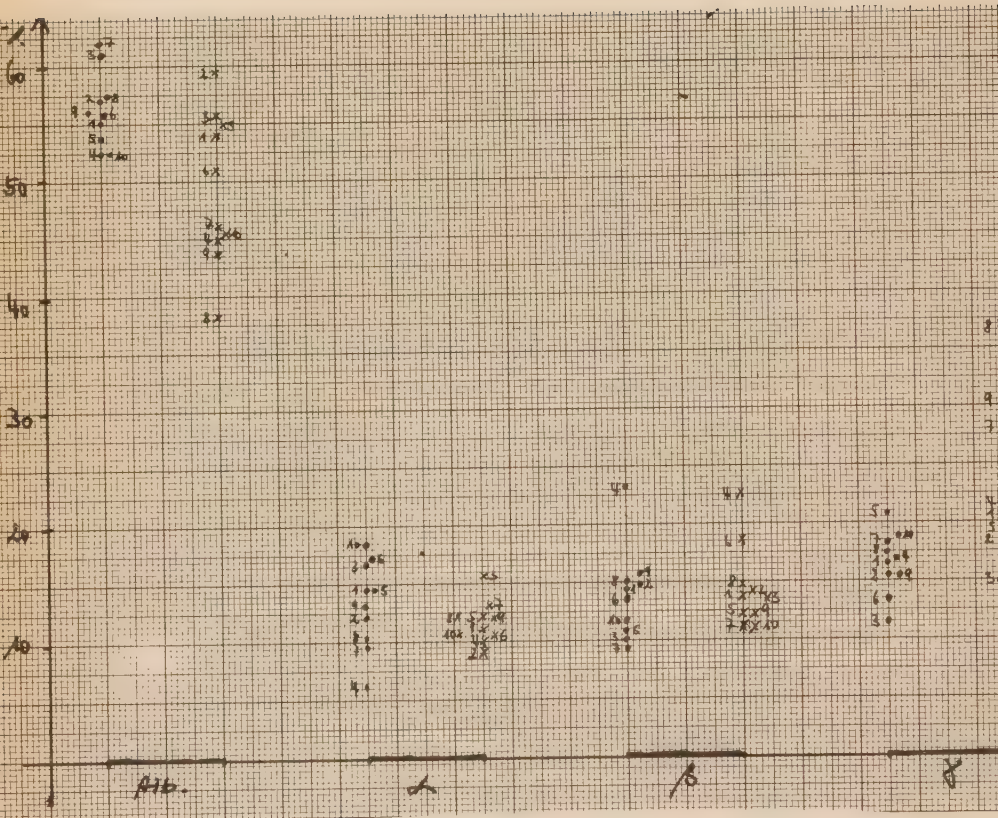


Abb. 7. Serumgewinnung 24 h nach Verabreichung der Testlösungen. - Zeichenerklärung s. Abb. 3.



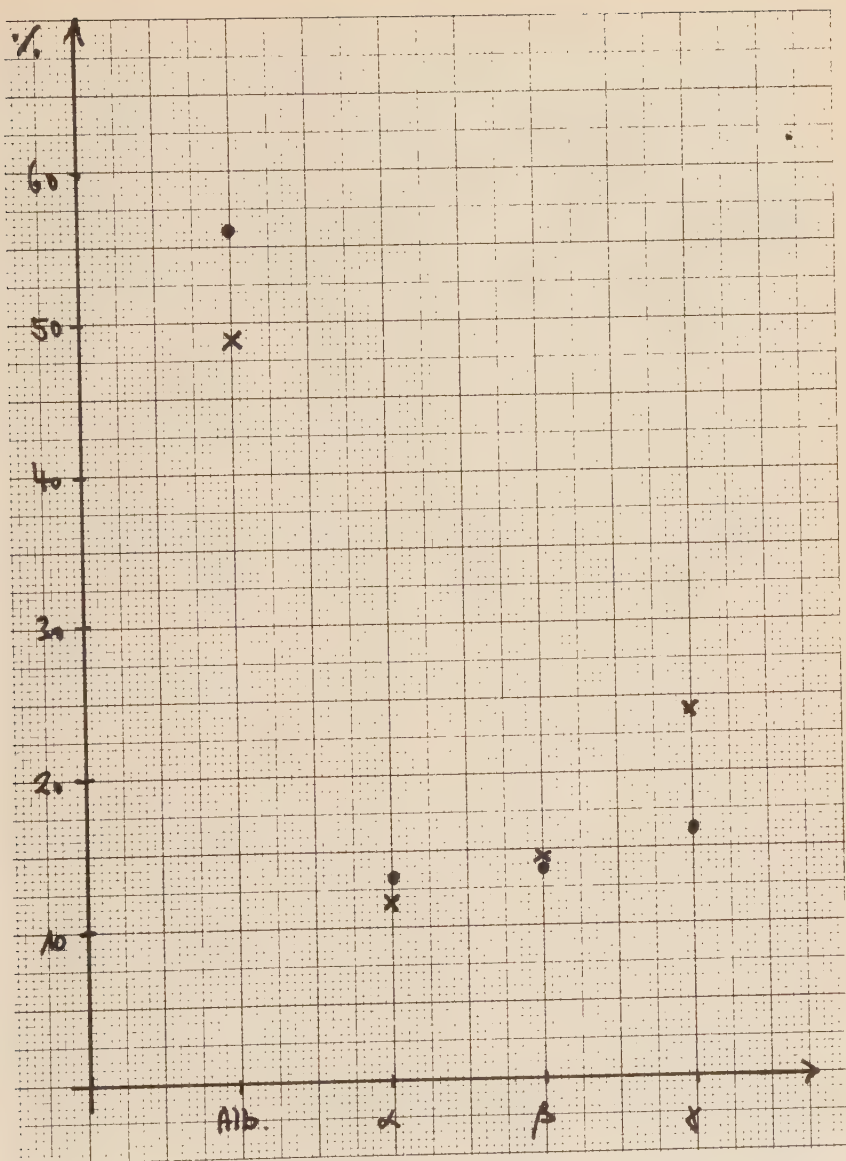


Abb. 9. Mittlere Serumweißwerte von unbehandelten Kaninchen
($n = 10$).
(errechnet aus den in Abb. 8 wiedergegebenen Einzelwerten)
Zeichenerklärung s. Abb. 8.

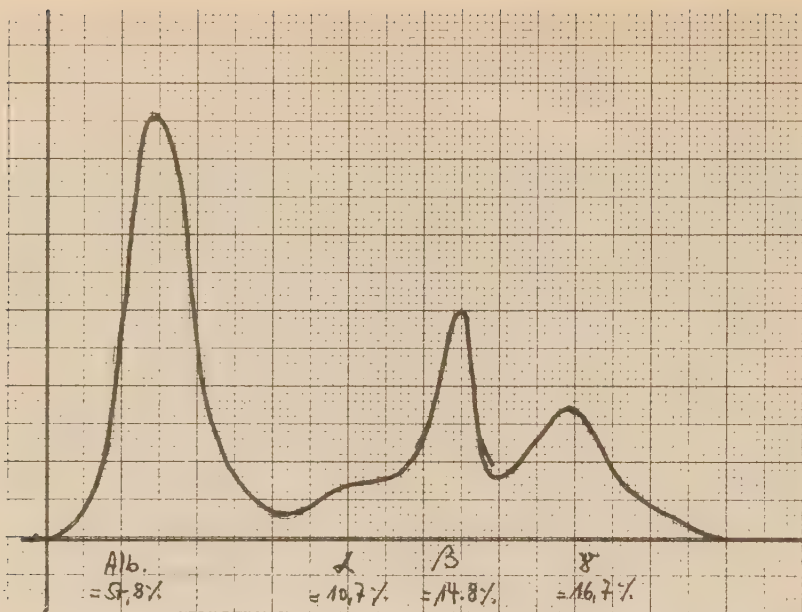


Abb. 10. Die Veränderungen der Zusammensetzung der Eiweissfraktionen vor und nach Lagerung bei -20°C am Beispiel des Serums von Tier Nr. 8

a) Untersuchung sofort nach der Serumgewinnung

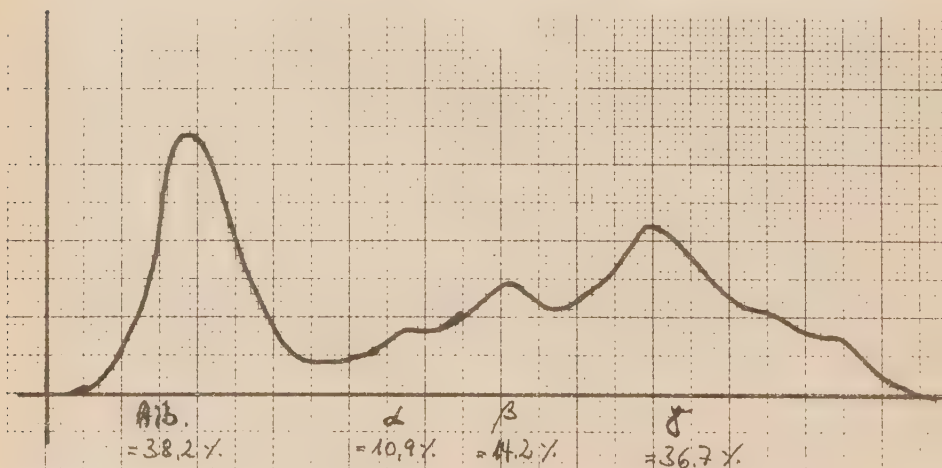


Abb. 10. (Fortsetzung)

b) Untersuchung nach dreiwöchiger Lagerung der Seren bei -20°C

ninchen angesetzt, deren Seren sorgsam hämolysefrei gewonnen wurden. Vor und nach Aufbewahrung bei -20°C über 3 Wochen wurden die Seren papier-elektrophoretische getrennt und der mittlere prozentuale Gehalt der einzelnen Eiweissfraktionen nebst Streuung bestimmt. In Tab. 17 a und Tab. 17 b sind die prozentualen Werte der Eiweissfraktionen wiedergegeben, die durch elektrophoretische Trennung unmittelbar nach der Serumgewinnung und nach 3 wöchiger Lagerung bei -20°C gefunden wurden. In Tab. 18 a, b, c sind die dazugehörigen Mittelwerte nebst Streuung und das Ergebnis der Varianzanalyse zusammengefasst.

Tab. 17: Ergebnisse der papierelektrophoretischen Trennung der Serumfraktionen (unbehandelte Tiere)

a) Untersuchungen unmittelbar nach Gewinnung der Seren

Tier Nr.	Alb.	alpha-	beta-	gamma-Glob.
1	55,1	14,4	14,4	16,1
2	57,5	12,8	14,6	15,1
3	61,3	16,6	10,5	11,6
4	52,8	7,1	23,4	16,7
5	54,2	14,6	10,8	20,4
6	55,2	17,0	13,9	13,9
7	62,6	9,9	9,9	17,6
8	57,8	10,7	14,8	16,7
9	55,4	13,9	15,7	15,0
10	52,5	18,2	11,8	17,5

b) Untersuchungen nach 3 wöchiger Lagerung der Seren bei -20°C

Tier Nr.	Alb.	alpha-	beta-	gamma-Glob.
1	54,0	11,8	13,5	20,7
2	59,0	9,0	13,9	18,1
3	55,6	15,5	13,5	15,4
4	45,5	10,3	22,5	21,7
5	54,8	12,6	12,9	19,7
6	51,5	10,8	18,5	19,2
7	46,6	13,8	11,2	28,4

Tier Nr.	Alb.	alpha-	beta-	gamma-Glob.
8	38,2	10,9	14,2	36,7
9	43,3	12,6	13,6	30,5
10	45,5	12,9	11,6	30,0

In Abb. 8 sind alle Einzelwerte graphisch dargestellt. Zur besseren Übersicht sind dazu in Abb. 9 die Mittelwerte nochmals getrennt dargestellt.

Tab. 18: Mittlere prozentuale Werte der Serumproteine nebst Streuung (n = 10)

a) Untersuchung unmittelbar nach Gewinnung der Seren

	Alb.	alpha-	beta-	gamma-Glob.
x	56,4	13,52	13,98	16,06
sd	3,37	3,47	3,895	2,273
sd %	5,98	25,66	27,86	14,775

b) Untersuchungen nach 3 wöchiger Lagerung der Seren bei - 20° C

	Alb.	alpha-	beta-	gamma-Glob.
x	49,4	12,02	14,54	24,04
sd	6,55	1,873	3,4173	6,874
sd %	13,259	15,582	23,502	28,594

c) Statistische Berechnung der Mittelwertsdifferenzen und Varianzanalyse

	Alb.	alpha-	beta-	gamma-Glob.
t	3,043	1,203	0,342	3,468
P	< 0,01 (> 0,001)	< 0,3 (> 0,2)	< 0,8 (> 0,7)	< 0,01 (> 0,001)

Als Beispiel für die Veränderung einer Elektrophoresekurve durch dreiwöchige Lagerung des Serums bei - 20° C (Tiefkühltruhe) ist in Abb. 10 a und Abb. 10 b eine solche für das Versuchstier Nr. 8 wiedergegeben.

Aus Tab. 16 und Tab. 17 sowie aus Abb. 8 und Abb. 9 ist zu entnehmen, dass auch nach Aufbewahrung der Seren bei -20°C die bei höheren Temperaturen beschriebenen Veränderungen des Serumeiweissbildes zustande kommen. Man findet vornehmlich eine Abnahme der Albumin-fraktion unter gleichzeitiger Zunahme der gamma-Globuline. Die Abnahme des mittleren prozentualen Albumingehaltes unter gleichzeitiger Zunahme des mittleren prozentualen Gehaltes an gamma-Globulinen ist statistische beweisend. Die Streuung erscheint verhältnismässig klein, jedoch liegt sie immer noch höher, als nach den Angaben in der Literatur zu erwarten war. Während z. B. DEUTSCH für die Albuminfraktion bei einem Kollektiv von nur 5 Tieren im Mittel 63,3% mit einer Streuung von nur 1,1% angibt, liegen unsere Werte im Mittel bei 56,4% mit einer Streuung von 3,37 (5,98%) bei einem Kollektiv von der doppelten Stärke, oder für die gamma-Globulinfraktion bei DEUTSCH 4,3% (sd 0,3), nach unseren Untersuchungen 16,06% (sd 2,37). Es kann demnach gesagt werden, dass auch eine Lagerung bei tiefen Temperaturen zu einer Veränderung des Serumeiweissbildes führt, wobei mit einer weitaus grösseren Fehlerbreite gerechnet werden muss, als es nach Angaben in der Literatur zu erwarten wäre. Dies gilt nicht nur für Seren, die eine gewisse Lagerungszeit überstanden, sondern auch für solche, die sofort nach ihrer Gewinnung untersucht wurden. -

7. DISKUSSION

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Untersuchungen ergaben, dass weder Wein, noch Äthanol, noch schweflige Säure unter den Versuchsbedingungen bezeichnende Änderungen der Blutbakterizidie, des Komplementtiters oder des Differenzialblutbildes verursachen. Dieses an sich negative Ergebnis ist insofern interessant, als aus der Literatur verschiedene anders lautende Angaben vorliegen. CREMER stellte bei seinen Untersuchungen eine nennenswerte Schädigung der bakteriziden Kraft des Blutes durch Gaben von schwefliger Säure fest. Leider ist dieses Ergebnis schwer zu diskutieren, da in der genannten Arbeit nur die Daten der Versuchsreihe, nicht aber die der Kontrollen mitgeteilt wurden. Sicherlich ist auch zu berücksichtigen, dass in der Arbeit die Werte vor Versuchsbeginn mit den nach über drei Monaten gemessenen Werten verglichen werden, denn in einem so grossen Zeitintervall können zahlreiche Faktoren mit einem Einfluss auf die Blutbakterizidie zur Auswirkung kommen. Ein Messwert muss deshalb nicht unbedingt Ausdruck eines Effektes der schwefligen Säure sein.

Bei den Versuchen von PFANNENSTIEL und ECKHARD wurde die Wirkung von ungeschwefelten Traubensäften mit der von geschwefelten Säften, einschliesslich einer Kontrolle mit Leitungswasser verglichen. Diese Versuchsanordnung steht jedoch mit unserer Fragestellung insofern nicht in Beziehung, als bei den genannten Autoren die Versuchstiere ein autoklaviertes (1 h bei 120° C) sog. "Mangelfutter" erhielten, während unsere oben beschriebenen Versuche unter natürlichen Lebensbedingungen abliefen.

Um einen Überblick über die Streuung der von PFANNENSTIEL und ECKHARD angegebenen Versuchswerte zu erhalten, wurde die Beweiskraft unter statistischen Gesichtspunkten verglichen. In Bestätigung der Annahme der Autoren ergab sich, dass die Zunahme der bakteriziden Kraft des Blutes nach Gaben von ungeschwefeltem Traubensaft, ebenso wie die Abnahme derselben nach Gaben von geschwefeltem Saft mit einer Wahrscheinlichkeit von 99% beweisend ist. Nicht ganz unbedenklich ist aber vielleicht die Tatsache, dass die bei Gabe von Leitungswasser beschriebene Abnahme der Blutbakterizidie bei einem Kollektiv von 7 Tieren statistisch beweisend ist, wenn man als Kriterium für die Signifikanz eine Wahrscheinlichkeit von 5% für die Zufallsbedingtheit der Änderung annimmt, ein Kriterium, das bei dem kleinen Kollektiv angewandt werden darf. Die Differenz zwischen den Versuchsergebnissen mit geschwefelten und ungeschwefelten Traubensäften ist statistisch signifikant. Ein Rückschluss auf unsere Ergebnisse ist aber nicht nur wegen der verschiedenen Ernährung der Tiere und der dadurch bedingten unterschiedlichen Ausgangslage der Blutbakterizidie vor Versuchsbeginn nicht möglich, sondern auch deswegen, weil die letztgenannten Autoren bei der Gegenüberstellung von geschwefeltem und ungeschwefeltem Saft mindestens zwei Unbekannte, nämlich das Vitamin C und die schweflige Säure gleichzeitig hatten, bei dem Vergleich mit Leitungswasser sogar noch mehr. Es kann deshalb sowohl an eine Wirkung der unterschiedlichen Vitamin C Konzentration gedacht werden, als auch an eine direkte Wirkung der schwefligen Säure auf den Organismus.

Die hier beschriebenen Versuche mit mehrmaligen Gaben der Testlösungen deuten - wenn auch nicht beweisend - an, dass die schweflige Säure die bakterizide Kraft des Blutes vielleicht doch etwas vermindert. Sollte dies zutreffen, dann könnte der Beweis dafür mit einem genügend grossen Tierkollektiv und der damit bedingten Herabsetzung der Streuung zweifellos geführt werden. Es dürfte aber nicht falsch sein, vor einer Überbewertung statistischer Erhebungen bei biologischen Versuchen dieser Art zu warnen, da eine kleine Änderung eines Mittelwertes, die statistisch nur mit grossen Ver-

suchszahlen gesichert werden kann, praktisch nicht bedeutungsvoll zu sein braucht.

Die Versuche zur Erfassung einer Änderung des Serumeiweissbildes unter den Versuchsbedingungen ergaben, dass durch Aufbewahren der Seren bei -20°C auf die Dauer von drei Wochen, ähnlich wie bei der Aufbewahrung unter höheren Temperaturen eine Verminderung der Albuminfraktion unter gleichzeitiger Erhöhung der gamma-Globulinfraktion erreicht wird. Die Streuung der Werte für die einzelnen Fraktionen ist auch bei Untersuchung der frischen Seren unmittelbar im Anschluss an die Blutentnahme viel grösser, als in der Literatur angegeben wird. -

8. ZUSAMMENFASSUNG

Im Tierversuch mit Kaninchen wurde der Einfluss von Wein, Äthanol und schwefliger Säure auf die Blutbakterizidie, den Komplementtiter und das Differenzialblutbild untersucht. Nach einmaligen und mehrmaligen Gaben der Testlösungen konnte im Gegensatz zu manchen anderslautenden Mitteilungen kein beweisender Einfluss festgestellt werden. Während der Versuchszeit erhielten die Tiere Normalkost, um aussergewöhnliche Lebensbedingungen zu vermeiden.

Die Untersuchungen des Serumeiweissbildes wurden nicht ausgewertet, da Vergleichsversuche ergaben, dass die Lagerung der Seren in der Tiefkühltruhe bei -20°C , die sich aus zeitlichen Gründen nicht vermeiden liess, zu ähnlichen Veränderungen in der Zusammensetzung der Serumproteinfraktionen führte, wie nach Lagerung bei höheren Temperaturen, nämlich zu einer Verminderung des prozentualen Gehaltes an Albumin unter gleichzeitiger Zunahme des prozentualen Gehaltes an gamma-Globulin in statistisch beweisender Grösse. Die Veränderungen im Gehalt an alpha- und beta-Globulinen sind dagegen nicht beweisend. Überdies konnte festgestellt werden, dass die Steuung der Werte bei nicht behandelten Tieren und sorgsam aufbereiteten Seren nennenswert grösser ist, als nach Literaturangaben hätte angenommen werden müssen. -

9. LITERATUR

- | | |
|------------------------------|--|
| AUERSWALD W., M. WENZL | Wien.klinWschr. <u>62</u> /2 775 1950 |
| BECKMANN K. | Handbuch der inneren Medizin
III/2 1953 |
| BERG G., F. SCHEIFFARTH | Z.f.exp.Med. <u>119</u> 550 1952 |
| BEST C.H., C.C. LUCAS | |
| J. H. RIDOUT, W. S. HARTROFT | Brit.med.J. II 1001 1949 |
| BUBB, PEDRAZZI | Schweiz.med.Wschr. <u>167</u> 1949 |
| BÜSING, RAABE | zit. PFANNENSTIEL |
| DEUTSCH H.F., M. B. GOODLOE | J. of biol. Chem. <u>161</u> 1 1945 |
| ECKHARD H. | Med.Diss. Marburg 1942 |
| EDSALL J. T. | Adv. of Prot. Chem. <u>3</u> 383 1947 |
| EPPINGER | Die Leberkrankheiten Springer Verl.
1947 |
| EVERBECK H. | in ANTWEILER H. J. Die quant. Elektrophorese in der Medizin
Springer Verl. 1957 |
| GILLISSEN G., G. KLING | Dtsch. Weinzeitung <u>24</u> 433 1955 |
| GRUNDMANN G., R. FISCHER | Dtsch.med.Wschr. <u>18</u> 1953 |
| HENRICH E. | Med.Diss. Marburg 1941 |
| HOLSEN T. | Z.f. Vit. forschg. <u>1</u> 1 1932 |
| KLIEWE H. | Ärztl. Praxis <u>XI</u> /19 671 1959 |
| KLIEWE H., G. GILLISSEN | Der dtsch. Weinbau u. Weinwiss.
<u>9</u> 3 1953 |
| KRIEGEL H., E. SPODE | Strahlentherapie <u>103</u> /1 140 1957 |
| LANG K. | Die Medizinische 489 1953 |
| LANG K., F. J. FEINEN | |
| H. D. CREMER | Klin. Wschr. 217 1951 |

LEUCH	Correspondenzblatt f. schweizer Ärzte te <u>19</u> 609 1895
MOORE D. H., ROBERTS I. B., CO- STELLO M., SCHONBERGER T. W.	J. of. biol. Chem. 180 1949
NORDMANN J.	Presse med. 830 1947
PFANNENSTIEL W.	Dtsch. med. Wschr. <u>19</u> 609 1952
POULSSON	Lehrbuch der Pharmakologie Leipzig 1944
RANDION, MORGAN u. MITARB.	zit. bei S. G. LUCIA Wine as Food and Medicine Toronto 1959
ROST, FRANZ	Mitteilg. aus dem Kaiserl. Gesund- heitsamt zit. KIEWE, GILLISSEN
SAGLAM, WATSON, HOWARD SIMMONDS, NAUNYN	zit. bei GILLISSEN, KLING
SCHANDERL H.	Zeitschr. Lebensmittelunters. u. Forschg. <u>103/5</u> 379 1956
SCHERMER S.	Die Blutmorphologie der Laborato- riumstiere Barth Verl. Leipzig 1954
SCHNEIDER G.	Virchows Arch. <u>317/26</u> 1949
SNEDECOR	Iowa Press Iowa 1953
VILLAR-CASO J., A. E. ZOFMANN, L. RIVERO-FONTEN	Rev. span. enferm. apat. digest <u>10</u> 446 1951
WATERSTRADT K.	Ärztl. Forschg. IV 181 1952
WENT	zit. bei GENEVOIS, RIBEREAU-GAYON Le Vin Paris 1947
WUNDERLY C.	Die Papierelektrophorese (Methoden und Ergebn.) Sauerländer & Co Aarau und Frankfurt/Main 1954
ZIEVE L., E. HILL	J. Lab. and clin. Med. <u>42/5</u> 705 1953

LEBENS LAUF

Am 25. Dezember 1933 wurde ich in Bethel bei Bielefeld als Sohn des Diakons Bernhard Groeneveld geboren. In Jugenheim / Rheinhessen besuchte ich von 1940 - 1944 die Volksschule. Im Februar 1953 erwarb ich nach neunjähriger Ausbildung am Sebastian-Münster-Gymnasium in Ingelheim / Rhein das Zeugnis der Reife. Nach einem Semester Chemie studierte ich seit Sommersemester 1954 Medizin in Heidelberg, München, Kiel und Mainz. Im Wintersemester 1959 / 60 beabsichtigte ich, an der Johannes-Gutenberg-Universität zu Mainz mein medizinisches Staatsexamen abzulegen. -

